

TITULO

DETERMINAR LA CARGA BACTERIOLÓGICA DE LECHE CRUDA DE VACA Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD HIGIÉNICA Y SANITARIA EN EL DISTRITO DE BAÑOS-HUÁNUCO, 2017.

Autor:

CANCHES GONZALES, TEOFANES ANSELMO.

RESUMEN

En la investigación se estableció la carga bacteriológica y su relación existente con la calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda de vaca, en el Distrito de Baños provincia de Lauricocha departamento de Huánuco. Se efectuó un análisis de laboratorio y una prueba de campo donde se evaluaron los recuentos de Mesófilos aeróbicos, *Estaphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *E.coli* y de Células Somáticas en medios de cultivo y el test de mastitis california (TMC), respectivamente. Comprendió el muestreo de 30 vacas en producción por muestreo probabilístico, en 10 hatos lecheros ubicados en la ciudad de Baños. se realizó dos tipos de pruebas, la primera una prueba indirecta de campo al momento del ordeño para Mastitis test california (MTC), como indicativo de la calidad sanitaria de la leche, por la presencia de células somáticas. Para la segunda prueba se recolectaron las muestras y fueron remitidas para el cultivo al laboratorio de microbiología del hospital Carlos Showing Ferraridiresa-Huánuco, como indicativo de la carga bacteriana y calidad higiénica. Considerando a la leche cruda como un alimento completo, también la hacen un medio de cultivo ideal para el crecimiento de microorganismos, se

determinó el Recuento bacteriano estándar en placa (RBP), para determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) bacterianas por mililitro de leche cruda de vaca, extendidas en placas de petri e incubadas durante 24 a 48 horas a 37°C, para las bacterias Mesofilos aeróbicos como indicativo de la calidad higiénica, *Streptococcus sp.*, *Estaphylococcus aureus* y, coliformes entero patógenos como la: *E.coli*, como indicativos de la carga bacteriológica.

Para interpretar la relación existente entre las variables estudiadas: calidad higiénica (Mesofilos aeróbicos) y calidad sanitaria (células somáticas) y la carga bacteriológica (*Streptococcus sp.*

Estaphylococcus aureus), en la leche cruda de vaca se aplicó la prueba estadística de Chi cuadrado de Pearson de independencia. Habiéndose encontrado que, la presencia de bacterias *estreptococos sp.* En leche cruda de vaca está relacionada directamente con la calidad higiénica, ($0,05 > 0,008$); por lo tanto se rechaza la hipótesis nula (H_0). la presencia de *Estaphylococcus aureus* en la leche cruda, la carga bacteriana nos señala que es independiente de la calidad higiénica, ($0,05 < 0,489$), por lo tanto se acepta la hipótesis nula (H_0). para el recuento de células somáticas como indicativo de calidad sanitaria de la leche cruda no se encontró relación con la calidad higiénica (Mesofilos aeróbicos), ($0,05 < 0,638$); por lo tanto se acepta la hipótesis nula (H_0). Se encontraron diferencias estadísticas entre recuentos de Mesófilos aeróbicos, y Células Somáticas hacen que no exista una relación fuerte. Para las bacterias coliformes: *E.coli*, no se observó crecimiento ni recuento alguno de colonias bacterianas (UFC/ml).

Palabras claves: carga bacteriana, UFC/ml, leche, cultivos bacterianos, higiene.

SUMMARY

In the present investigation, the bacteriological load and its existing relationship with the hygienic and sanitary quality of raw cow's milk were determined in the district of Baños province of Lauricocha department of Huánuco. A laboratory analysis and a field test were carried out. the counts of aerobic Mesophiles, Staphylococcus aureus, Streptococcus sp, E. coli and Somatic Cells in culture media and the mastitis California test (TMC), respectively, were evaluated. It included the sampling of 30 cows in production by probabilistic sampling, in 10 dairy herds located in the city of Baños. There were two types of tests, the first an indirect field test at the time of milking for Mastitis test California (MTC), as Indicative of the sanitary quality of milk, due to the presence of somatic cells. For the second test, the samples were collected and sent for the culture to the microbiology laboratory of the Carlos Hospital, showing Ferrari- DIRESA- Huánuco, as indicative of the bacterial load and hygienic quality.

Considering raw milk as a complete food for humans, they also make it an ideal culture medium for the growth of microorganisms, the standard bacterial count in plate (RBP) was determined, to determine the number of colony forming units (UFC) bacterial per milliliter of raw cow's milk, spread in petri dishes and incubated for 48 hours at 32 ° C, for aerobic Mesophilic bacteria as indicative of hygienic quality, Streptococcus sp.,

Staphylococcus aureus and, whole pathogenic coliforms as the: E.coli, as indicative of the bacteriological load.

To interpret the existing relationship between the variables studied: hygienic quality (aerobic Mesophiles) and sanitary quality (somatic cells) and bacteriological load (Streptococcus sp.A. and Staphylococcus aureus), the Chi square test was applied in raw cow's milk. of Pearson of independence. Having found that, the presence of Streptococcus sp. In raw cow's milk it is directly related to the hygienic quality, ($0.05 > 0.008$), therefore the null hypothesis (H_0) is rejected. The presence of Staphylococcus aureus in the raw milk bacterial load indicates that it is independent of hygienic quality, ($0.05 < 0.489$), therefore the null hypothesis (H_0) is accepted. For the somatic cell count as an indicator of sanitary quality of raw milk, no relation was found with the hygienic quality (aerobic Mesophiles), ($0.05 < 0.638$), therefore the null hypothesis (H_0) is accepted. HE They found statistical differences between aerobic Mesophilic counts, and Somatic Cells do not have a strong relationship. For coliform bacteria: E.coli, no growth or bacterial colon count was observed (CFU / ml).

It is concluded that the milking routine are not being effective in the reduction of the microbiological counts, consequently there is proliferation of microorganisms in the mammary gland of the cow producing a decrease in the quality of the milk that is reflected in the sanitary and hygienic components.

Key words: bacterial load, CFU / ml, milk, bacterial cultures, hygiene.

INTRODUCCION

La propiedad de la leche no cocida de vaca se establece mediante medidas higiénicas, saludables y composicionales. Manifestarse sobre la particularidad del lácteo la leche representa, para el interesado mercancías de adecuada propiedad y, de excelente manifestación y para el ranchero mejor productividad al poseer su equipo saludable y por ende, tener mayores ganancias económicas por la comercialización de sus productos según (1).

La leche cruda, es la secreción de la glándula mamaria de los animales mamíferos, de la que se alimentan las crías en la fase inicial de su vida. es el producto integro no alterado y sin calostro procedente de un ordeño higiénico, regular, completo e interrumpido de hembras mamíferos domésticas, sanas y bien alimentadas, (Código alimentario español). La leche de calidad, "aquella procedente de vacas sanas, es rica en materiales útiles y pobre en agentes contaminantes", así de sencillo según (2).

En este contexto es necesario velar por una producción libre de microorganismos patógenos mediante la aplicación de normativas técnicas y sanitarias vigentes, desde la obtención del producto hasta la comercialización con fines industriales en la fabricación de productos lácteos. También es necesario implantar políticas y técnicas de manejo que ayuden a la obtención de leche de buena calidad y que cumplan con medidas higiénicas y sanitarias. es conocido que las malas prácticas inadecuadas de higiene realizadas durante el ordeño de las vacas en la obtención de la leche afectan su calidad, aumentando el número de microorganismos y el recuentos de

Células Somáticas no cumpliendo con las normas establecidas según el Codex alimentarius según, (3), como organismo normativo y responsable de velar por la utilización de alimentos inocuos y no perjudiciales para nuestra salud

En la ciudad de baños provincia de Lauricocha, no existe datos o reportes o información previa que ayude a los productores a predecir el rendimiento de los diferentes productos lácteos producidos en la zona, con lo que su eficiencia al momento de acopiar y procesar la leche puede verse afectada.

El producto lácteo proveniente de la vaca es de los pocos alimentos a ser tomados en cuenta como un producto equitativo, es muy adecuada y admitida por los pobladores el sustento adecuado más constante y primordial, independientemente de la edad de los interesados según (4).

Las bacterias en leche cruda pueden afectar la calidad, seguridad y aceptación del consumidor de productos lácteos. En salud pública, su presencia puede dar lugar a enfermedades zoonóticas. La presencia de colonia elevada de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp* *Coliformes*, *Mesófilos aerobicos* y un mayor número en el Recuento de Células Somáticas, alteran la salud pública y producen grandes pérdidas en las ganaderías de nuestra región. Debido al limitado conocimiento de los criadores de bioseguridad, higiene y salubridad, produciéndose la propagación de microorganismos en la glándula mamífera de las vacas causando mastitis y por tanto una disminución en la calidad de la leche cruda según. (5).

El actual trabajo se basó en determinar la carga bacteriana y su correspondencia con la eficacia aséptica y salubre de la leche no cocida producida en el distrito de Baños. Con la

finalidad de brindar aportes y conocimiento en cuanto a producir leche de buena calidad inocua para el consumo humano así como las buenas prácticas de manejo y técnicas de ordeño en la ganadería lechera y garantizar una leche sana y apta para el consumo humano.

MATERIALES Y METODOS

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el actual estudio de investigación se manejó, la ensayo de Chi cuadrado Pearson independiente, Dicho ensayo logra usarse inclusive con datos conmensurable en una escala nominal. La suposición nula de la prueba Chi-cuadrado postula una distribución de probabilidad totalmente especificada como el modelo matemático de la población que ha generado la muestra. Para el análisis se empleó el programa estadístico IBM SPSS estadistics 22, para la prueba de hipótesis y valoración del grado de significancia entre la carga bacteriana, calidad higiénica y calidad sanitaria en leche cruda de vacas de los 10 hatos lecheros en la ciudad de baños.

ANALISIS DE DATOS, PRUEBA DE HIPOTESIS.

De los datos y resultados obtenidos como producto de la investigación podemos deducir que la relación es independiente entre la calidad higiénica (Mesofilos aeróbicos), calidad sanitaria (células somáticas) y carga bacteriana (*Estaphilocus aureus*), aceptando la hipótesis nula. A pesar que las muestras resultaron positivas. También Existiendo una relación directa entre calidad higiénica (Mesofilos aeróbicos) y carga bacteriana (*Estreptococcus* sp); rechazando la hipótesis nula. Para la prueba de hipótesis y comparación de resultados se utilizó la prueba de Chi cuadrado de Pearson. La hipótesis nula de la prueba Chi-cuadrado, postula una distribución de probabilidad totalmente

especificada como el modelo matemático de la población que ha generado la muestra. Para realizar este contraste se disponen los datos en una tabla de frecuencias.

Pearson utilizó la letra griega χ (en otras grafías: χ , χ , $\chi...$), que se lee chi o ji. Como las diferencias son cuadráticas, se la conoce como Chi cuadrado de Pearson y se simboliza con χ^2 . Por lo tanto, la expresión de Cálculo es:

El estadístico de prueba se basa en las diferencias entre la O_i y E_i y se define como:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Los conteos de las UFC/ml de cada microorganismo evaluados se cotejaron con las especificaciones sanitarias con base según, (6).

Para determinar si el conteo es apto o no para el consumo humano. Los conteos de UFC se transformaron a logaritmo base 10 para el análisis de los datos. El análisis microbiológico se realizó de acuerdo a lo especificado en las normas oficiales peruanas e internacionales con sus disposiciones y especificaciones sanitarias según (6).

TECNICAS E INSTRUMENTOS

a. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

| TECNICA | DATOS | INSTRUMENTO |
|----------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| APLICATIVA | Recolección correcta de las muestras de leche cruda. | INSTRUCTIVO |
| OBSERVACIONAL | Técnica o manejo del ordeño para la extracción de leche | GUIA DE OBSERVACION |
| CUANTIFICACION | numero de colonias de bacterias UFC /ml | RECUESTO EN PLACAS. |
| INTERROGATIVO | Información sobre calidad higiénica y sanitaria. | CUESTIONARIO DE PREGUNTAS. |
| DEDUCTIVO | Indicativo de inflamación o mastitis en las ubres de las vacas. | TEST MTC. DE PRUEBA DE CAMPO. |

Fuente: el autor.

ACTIVIDADES REALIZADAS.

TOMA DE LA MUESTRAS.

Para la toma de muestra, se tuvo en consideración vacas en lactación números de partos, numero de vacas por establo o hato y la raza de los animales.

Se recolecto 10 muestras de 10 ml cada una de leche cruda de vaca, en los 10 centros de ordeño o explotación lechera del distrito de baños, considerando la secreción láctea de 3 vacas por hato lechero. En la visita se tomó nota de las condiciones higiénicas y sanitarias en las horas de ordeño, se levantó una encuesta epidemiológica cuantitativa y cualitativa por medio de un cuestionario de preguntas para obtener información general del manejo productivos y manejo sanitario datos de la finca, tipos de ordeño, identificación de mastitis, manejo de la leche post ordeño etc. relacionadas a la calidad higiénico y sanitaria. La temperatura y la humedad ambiental el día del muestreo fueron proporcionadas por el Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología. Estos datos formaron parte de la hoja de datos de cada muestra. Las muestras de leche cruda fueron recolectadas, transportadas, codificadas, en tubos de ensayo herméticamente cerrados y en bolsas de polietileno a 4 °C en caja de tecnoport para su procesamiento en el Laboratorio de Microbiología del hospital "Carlos Showing Ferrari",DIRESA,Huánuco.

Se realizó la prueba de campo Mastitis tes california (MTC),a las 30 vacas,3 por establo o hato lechero, como indicativo del I grado de gelificacion y la presencia de células somáticas en la leche cruda de vaca.

RECURSOS MATERIALES:

Equipos:

- ❖ -Centrifuga.

- ❖ -Autoclave.
- ❖ -Refrigeradora.
- ❖ -Tubos de prueba de 10ml.
- ❖ -Bolsas de polietileno.
- ❖ -Placas Petri.
- ❖ -Cajas de tecnoport para el transporte de muestras, (cooler).
- ❖ -Agares para siembra de muestras y crecimiento bacteriano.
- ❖ -Hornos.
- ❖ -Accesorios e implementos de un laboratorio de microbiología.
- ❖ -Test MCT.
- ❖ -Gelificantés.
- ❖ -Pipetas de toma.
- ❖ -Pipetas micrométricas.

Biológicos:

- ❖ Leche de Vacas en el periodo de lactancia.

Materiales de campo:

- ❖ -Guantes látex
- ❖ -Mameluco plastificado.
- ❖ -Botas de caucho.
- ❖ -Tablero de campo.
- ❖ -Cámara fotográfica.

Materiales de escritorio:

- ❖ -Tablero acrílico porta papeles.
- ❖ -Calculadora.
- ❖ -Lapicero negro.
- ❖ -Lápiz.
- ❖ -Papel bond A4.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

PROCEDIMIENTOS EN EL LABORATORIO.

MEDIOS DE CULTIVO.

- Disolver** y Preparar el Agar selectivo para las bacterias: Aerobios Mesófilos Coliformes(E.coli y salmonella shigella) y Staphylococcus áureos,Estreptococcus sp.con agua destilada 11.1 gr de agar en 100 ml de agua destilada en un frasco de Erlenmeyer, homogenizarlo y llevarlo al mechero, esterilizarlo en autoclave

a 121 C° de temperatura por 15 minutos a 15 libras de presión juntamente con las placas Petri a utilizar.

b. Plaqueo donde se añade el cultivo esterilizado a las placas Petri cubriendo toda la base de las placas, 20 ml por placa Petri.

c. Siembra la muestra con hisopo respectivo para cada muestra en forma de estrías sobre el agar. se lleva al horno para el proceso de **incubación a 37 C° por 24 a 48 horas.**

d. Diluciones: Se realizó las diluciones de la muestra empleándose diluciones de 10^1 como dilución madre hasta dilución 10^5 , la que se utilizó para la siembra. La incubación fue a 37° C con un tiempo de 24 a 48 horas. Para estos recuentos se emplearon láminas de placas Petri con cultivos selectivos donde se inoculó un volumen de 1 ml de la muestra de la dilución 10^5 , de leche cruda según (7).

B. Selección de las placas y recuento de las colonias:

a). Después del periodo de incubación, seleccionar aquellas que presentan de 30 a 300 colonias no difusas.

b) Contar las colonias con ayuda de amplificación, preferiblemente con un contador de colonias tipo Québec de campo oscuro, provisto de una placa guía marcada en centímetros cuadrados. Deben contarse las colonias incluyendo las puntiformes, que no deben confundirse con partículas de medio no disueltas o sustancias precipitadas.

c). Multiplicar el número total de colonias por el recíproco de la dilución correspondiente, haciendo la aproximación hasta el segundo dígito que se sigue de tantos ceros como sean necesarios para indicar la dilución correcta según. (8).

ANÁLISIS DE LA CALIDAD HIGIÉNICA Y SANITARIA DE LA LECHE CRUDA.

Se realizó la prueba de campo, indirecta para el recuento de células somáticas utilizando el **TEST Mastitis california (TMC)**, con la finalidad de determinar la calidad sanitaria, mediante el indicativo de células somáticas en la leche cruda de vaca.

En cuanto al Recuento de Células Somáticas (RCS), si las células Somáticas se ven aumentadas pueden ser por varias causas entre ellas la mastitis, el inicio y final de la lactancia, el estrés de los animales, cambios en la higiene ambiental, funcionamiento del sistema de ordeño y cambios en el clima según (9).

El número de colonias de bacterias patógenas (UFC/ml), se utilizara como indicativos de la calidad higiénica por el manejo de la leche cruda y manejo del establo o hato lechero, sobre todo en el momento del ordeño y limpieza de los corrales y sala de ordeño.

Resultados

Los resultados obtenidos como producto del problema en la investigación que se presenta a continuación, las cuales han sido sometidas a pruebas estadísticas lo que confiere validez y fiabilidad que exige el rigor científico.

RELACION DE LA CARGA BACTERIOLOGICA CON LA CALIDAD HIGIENICA Y SANITARIA DE LA LECHE CRUDA DE VACA.

Relación entre el recuento de *Mesofilos aeróbicos* (UFC/ml) como indicadores de la calidad higiénica y el recuento de *Streptococos sp.* (UFC/ml), Como indicadores de carga bacteriana, en leche cruda de vaca.

Al análisis estadístico según la prueba de Chi Cuadrado de Pearson reporta que existe relación directa entre la higiene de la leche cruda de vaca y la carga de bacterias del género *Streptococos sp.*

Para la interpretación se consideró el número de unidades formadoras de colonias bacterianas de *Mesofilos aeróbicos* (UFC/ml), como indicativo de calidad higiénica y el número de unidades formadoras de colonias bacterianas de *Streptococcus sp* (UFC/ml), como indicativo de carga bacteriana en leche cruda de vaca, con un margen de error de ($p < 0.05$) resultando que ($0.05 > 0.008$)

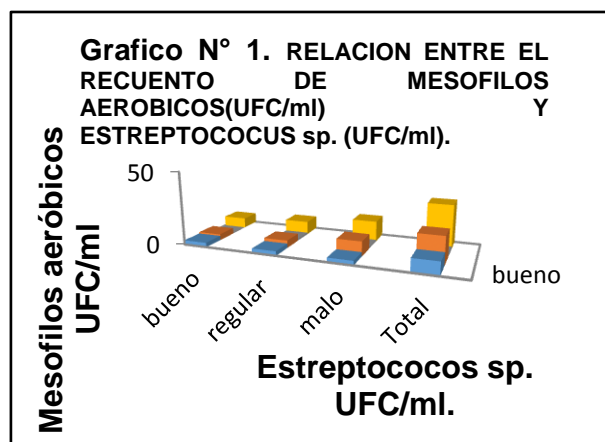
Cuadro N° 1

RELACION ENTRE EL RECuento DE MESOFILOS AEROBICOS (UFC/ml), COMO INDICADORES DE LA CALIDAD HIGIENICA Y *ESTREPTOCOCUS sp.* (UFC/ml) COMO

| Variables | Streptococos sp. cUFC/ml. | | | | |
|----------------------------|---------------------------|-------|---------|------|-------|
| | Grado de relación | Bueno | Regular | Malo | Total |
| Mesofilos aeróbicos UFC/ml | Bueno | 5 | 0 | 2 | 7 |
| | Regular | 2 | 2 | 5 | 9 |
| | Malo | 0 | 3 | 11 | 14 |
| | Total | 7 | 5 | 18 | 30 |

INDICADORES DE CARGA BACTERIANA, EN LECHE CRUDA DE VACA.

Fuente: el autor.



Fuente: el autor.

Fuente: el autor.

Relación entre el recuento de Mesofilos aeróbicos (UFC/ml) como indicadores de la calidad higiénica y Estaphilococcus aureus(UFC/ml), como indicadores de carga bacteriana en leche cruda de vaca.

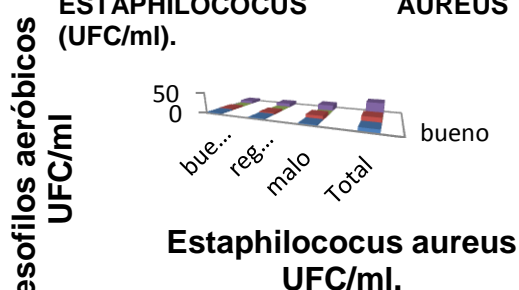
El grado de relación entre el número de unidades formadoras de colonias de Mesofilos aeróbicos (UFC/ml), como indicativo de calidad higiénica y el número de unidades formadoras de colonias de Estaphilcoccus aureus (UFC/ml), como indicativo de carga bacteriana en leche cruda de vaca, que al aplicar la prueba estadística Chi cuadrado de Pearson arrojo independendencia entre estas variables, considerando como margen de error ($p < 0.05$) siendo ($0.05 < 0.489$).ver **Cuadro N°2.**

Cuadro N° 2

RELACION ENTRE EL RECUENTO DE MESOFILOS AEROBICOS(UFC/ml) COMO INDICADORES DE CALIDAD HIGIENICA Y ESTAPHILOCOCCUS AUREUS(UFC/ml)COMO INDICADORES DE CARGA BACTERIANA EN LECHE CRUDA DE VACA.EN LECHE CRUDA.

| variable | Estaphilococcus aureus UFC/ml | | | | |
|-------------------------------|----------------------------------|--------|----------|-------|-------|
| | Grado de relación | Bue no | Regul ar | Mal o | TOTAL |
| Mesofilos aeróbicos UFC/ml | Bueno | 6 | 0 | 1 | 7 |
| | Regular | 6 | 0 | 3 | 9 |
| | | | | | |

Grafico N° 2. RELACION ENTRE EL RECUENTO DE MESOFILOS AEROBICOS(UFC/ml)Y ESTAPHILOCOCCUS AUREUS (UFC/ml).



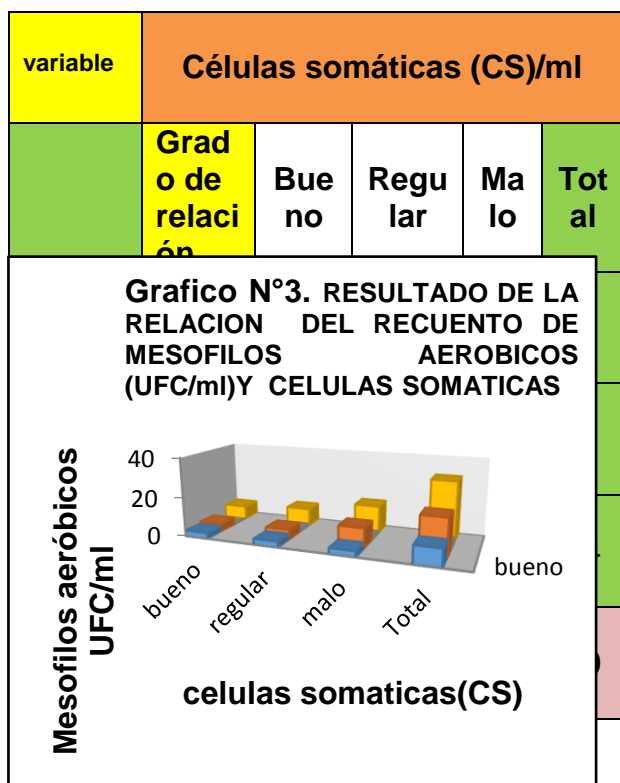
Relación entre el recuento de Mesofilos aeróbicos (UFC/ml), como indicativo de calidad higiénica y el recuento de células somáticas (CS), como indicativo de calidad sanitaria, en leche cruda de vaca.

El grado de relación entre el número de unidades formadoras de colonias de Mesofilos aeróbicos (UFC/ml), como indicativo de calidad higiénica y el recuento de células somáticas (CS), como indicativo de calidad sanitaria, en leche cruda de vaca mostro independendencia al aplicar la prueba de Chi cuadrado de Pearson para una ($p < 0.05$) en consecuencia se aceptó la Ho, siendo el resultado el siguiente, ($0.05 < 0.638$).**Cuadro N°3.**

Cuadro N°3.

RELACION ENTRE EL RECUENTO DE MESOFILOS AEROBICOS(UFC/ml), COMO INDICADORES DE LA CALIDAD HIGIENICA Y EL RECUENTO DE CELULAS SOMATICAS(CS) COMO INDICADORES DE CALIDAD SANITARIA, EN LECHE CRUDA DE VACA.

Fuente: e



Fuente: el autor.

DISTRIBUCION DE LAS MUESTRAS SEGÚN RESULTADOS COMO INDICADORES DE CARGA BACTERIANA, CALIDAD HIGIENICA Y SANITARIA EN LECHE CRUDA DE VACA.

Distribución de las muestras según resultados en el recuento de Mesofilos aeróbicos (UFC/ml). En cultivos de Agar Plate Count. Como indicativo de la calidad higiénica.

El recuento de Mesofilos aeróbicos (UFC/ml), es un indicativo de la Condición o calidad higiénica de la leche cruda de vaca. Al análisis de 30 muestras recolectadas el 23%(7), se encontraron dentro de los rangos establecidos considerándose como buenas. El 30%(9) de las muestras reportaron regularidad en los recuentos de colonias bacterianas de Mesofilos aeróbicos, y un 47 %(14) muestras reportaron altos recuentos de colonias formadoras de Mesofilos aeróbicos considerándose como muestras de leche de mala calidad. Los resultados

encontrados se encuentran consignados en el **Cuadro N° 4.**

Cuadro N° 4.

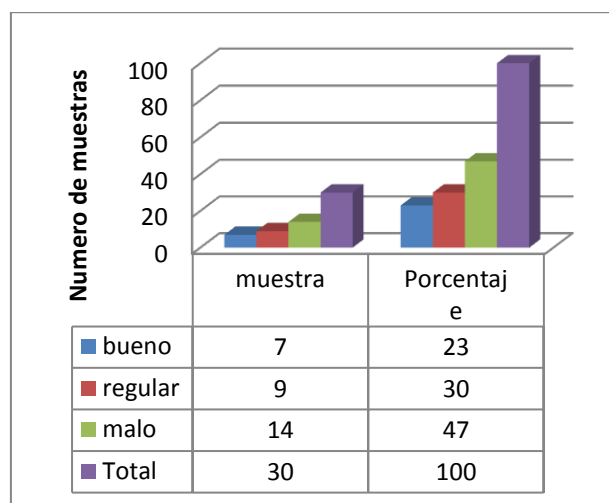
DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS SEGÚN RESULTADO EN EL RECuento DE MESOFILOS AEROBICOS (UFC/ML), EN CULTIVO DE AGAR PLATE COUNT (PC), COMO INDICATIVO DE LA CALIDAD HIGIÉNICA DE LA LECHE CRUDA DE VACA.

| CALIDAD DE LA MUESTRA | MUESTRAS (n°) | PORCENTAJE (%) |
|-----------------------|---------------|----------------|
| BUENO | 7 | 23 |
| REGULAR | 9 | 30 |
| MALO | 14 | 47 |
| TOTAL | 30 | 100 |

Fuente: el autor.

Grafico N° 4.

DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS SEGÚN RESULTADO EN EL RECuento DE MESOFILOS AEROBICOS (UFC/ML), EN CULTIVO DE AGAR PLATE COUNT (PC), COMO INDICATIVO DE LA CALIDAD HIGIÉNICA DE LA LECHE CRUDA DE VACA.



Fuente: el autor.

Distribución de las muestras según resultados en el recuento de *Streptococcus* sp. (UFC/ml), en cultivos de agar sangre(AS).como indicativo de la carga bacteriológica en leche cruda de vaca.

Del total (30) de muestras analizadas el 23%(7) no van a superar los estándares de calidad, en el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus* sp. Considerándose muestras buenas de leche cruda. 17% (5) muestras superan los estándares de calidad considerándose muestras como regulares para unidades formadoras de colonias (UFC), de *Streptococcus* sp. Y se reporta 60%(18) muestras sobre los estándares, considerándose como de mala calidad. Clasificándolo esta leche cruda como de muy alta carga bacteriológica. Los resultados encontrados se encuentran consignados en el cuadro N°5.

Cuadro N° 5.

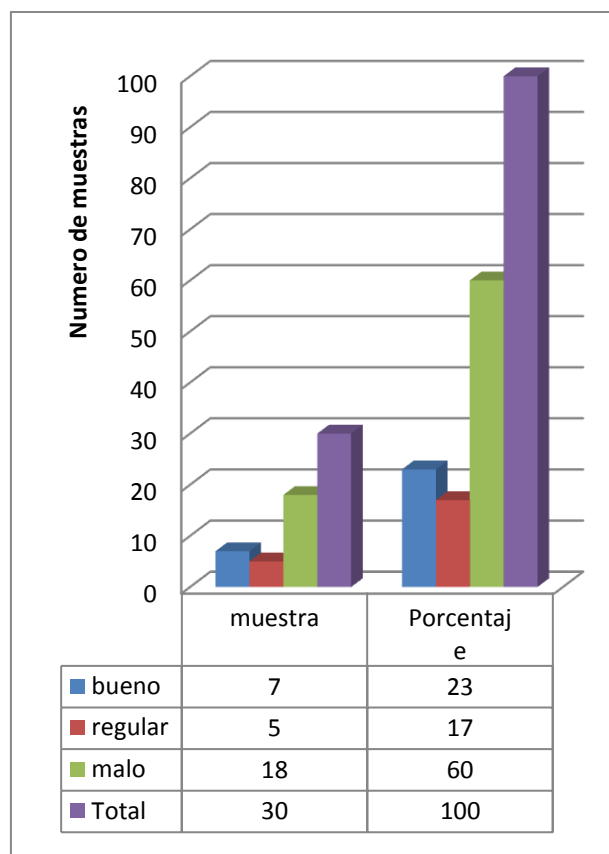
DISTRIBUCION DE LAS MUESTRAS SEGUN RESULTADOS EN EL RECuento DE *STREPTOCOCUS* SP. EN CULTIVOS DE AGAR SANGRE (AS).COMO INDICATIVO DE LA CARGA BACTERIOLOGICA EN LECHE CRUDA DE VACA.

| CALIDAD DE LA MUESTRA | MUESTRAS (N°) | PORCENTAJE (%) |
|-----------------------|---------------|----------------|
| BUENO | 7 | 23 |
| REGULAR | 5 | 17 |
| MALO | 18 | 60 |
| TOTAL | 30 | 100 |

Fuente: el autor.

Grafico N° 5.

DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS SEGÚN RESULTADOS EN EL RECuento DE *STREPTOCOCUS* SP. (UFC/ML), EN CULTIVOS DE AGAR SANGRE(AS).COMO INDICATIVO DE LA CARGA BACTERIOLÓGICA EN LECHE CRUDA DE VACA.



Fuente: el autor.

Distribución de las muestras según resultados en el recuento de *Staphylococcus aureus* (UFC/ml). En cultivos de agar manitol salado (AMS). Como indicativo de la carga bacteriológica en leche cruda de vaca. Del total de 30 muestras analizadas 67 % (20) no superan los estándares de calidad, en el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Staphylococcus aureus* considerándose muestras buenas de leche cruda. El 7% (2), superan los estándares de calidad considerándose muestras como regulares para unidades formadoras de colonias (UFC), de *Staphylococcus*

aureus y se reporta 26 %(8) muestras sobre los valores o estándares, considerándose como de mala calidad. Los resultados encontrados se encuentran consignados en el **Cuadro N° 6.**

Cuadro N° 6.

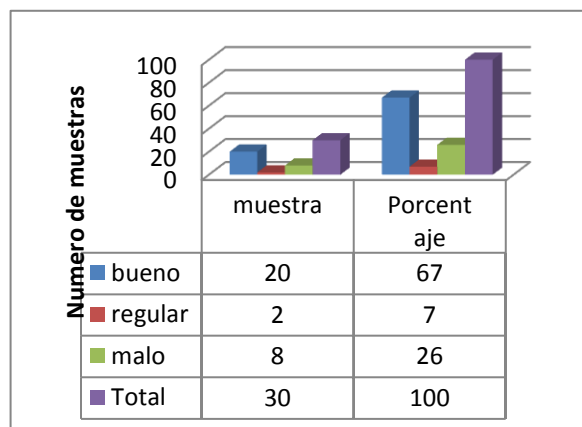
DISTRIBUCION DE LAS MUESTRAS SEGUN RESULTADOS EN EL RECUENTO DE ESTAPHILOCOCCUS AUREUS (UFC/ml) EN CULTIVOS DE AGAR MANITOL SALADO. (AMS). COMO INDICATIVO DE LA CARGA BACTERIOLOGICA EN LECHE CRUDA DE VACA.

| CALIDAD DE LA MUESTRA | MUESTRAS (N°) | PORCENTAJE (%) |
|-----------------------|---------------|----------------|
| BUENO | 20 | 67 |
| REGULAR | 2 | 7 |
| MALO | 8 | 26 |
| TOTAL | 30 | 100 |

Fuente: el autor.

Grafico N°.6.

DISTRIBUCION DE LAS MUESTRAS SEGUN RESULTADOS EN EL RECUENTO DE ESTAPHILOCOCCUS AUREUS (UFC/ml) EN CULTIVOS DE AGAR MANITOL SALADO. (AMS). COMO INDICATIVO DE LA CARGA



BACTERIOLOGICA EN LECHE CRUDA DE VACA.

Distribución de las muestras según resultados en el recuento de células somáticas (CS). Mediante la prueba de campo mastitis test california (MTC). Como indicativo de calidad sanitaria en leche cruda de vaca.

En nuestra investigación Los niveles de células somáticas de las muestras de leche analizada 30%(9), se encontraron bajos del número recomendado, permitido, 63%(19) se encontraron con un número regular sobre los niveles permitidos, y 7%(2) de muestras analizadas se encontraron con niveles altos. Los resultados encontrados se encuentran consignados en la el **Cuadro N° 7.**

CUADRO N° 7

DISTRIBUCION DE LAS MUESTRAS SEGÚN RESULTADOS EN EL RECUENTO DE CELULAS SOMATICAS, MEDIANTE LA PRUEBA DE CAMPO MASTITIS TEST CALIFORNIA (MTC). COMO INDICATIVO DE CALIDAD SANITARIA EN LECHE CRUDA DE VACA.

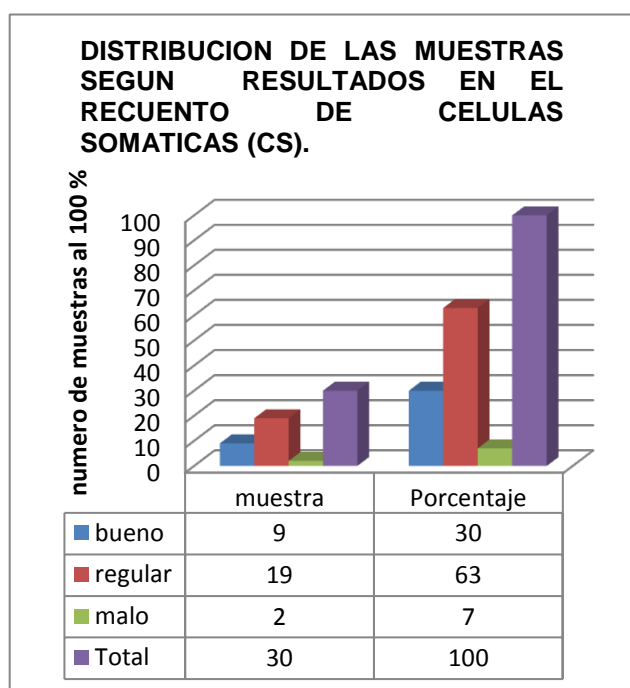
| CALIDAD DE LA MUESTRA | MUESTRAS (N°) | PORCENTAJE (%) |
|-----------------------|---------------|----------------|
| BUENO | 9 | 30 |
| REGULAR | 19 | 63 |
| MALO | 2 | 7 |

| | | |
|--------------|-----------|------------|
| TOTAL | 30 | 100 |
|--------------|-----------|------------|

Fuente: el autor.

Grafico N° 7.

DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS SEGÚN RESULTADOS EN EL RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CS). MEDIANTE LA PRUEBA DE CAMPO MASTITIS TEST CALIFORNIA (MTC).COMO INDICATIVO DE CALIDAD SANITARIA EN LECHE CRUDA DE VACA.



Fuente: Autor

Distribución de las muestras según resultados en el recuento de E. coli (UFC/ml). En cultivos Agar Mac Conkey. Como indicativo de carga bacteriana en leche cruda de vaca.

De las 30 muestras de leche cruda recolectadas para el recuento de unidades formadoras de colonias bacterianas de E.coli (UFC/ml), ninguna mostro crecimiento en el cultivo, o no se observó crecimiento de colonias

bacterianas, que podría estar relacionado a factores externos que se discuten posteriormente.

DISCUSIÓN

Verificación y contrastación de la hipótesis.

En función a los resultados encontrados en la prueba de hipótesis, habiéndose utilizado la prueba de Chi cuadrado de Pearson de independencia, se acepta la hipótesis nula que indica que:

Ho: Existe relación independiente entre la carga bacteriana, la calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda de vaca en el distrito de Baños.

Así mismo rechaza la hipótesis nula:

Hi: Existe relación directa entre la carga bacteriana, la calidad higiénica y sanitaria de leche cruda de vaca en el distrito de baños.

A. Análisis de la relación de la calidad higiénica (mesofilos aeróbicos) y carga bacteriana (Streptococcus sp., Staphilococcus aureus y E.coli.

El recuento de Mesofilos aeróbicos (UFC/ml), es un indicativo de la Condición o calidad higiénica de la leche cruda de vaca. Al análisis de 30 muestras recolectadas el 23%(7), se encontraron dentro de los rangos establecidos considerándose como buenas. El 30%(9) de las muestras reportaron regularidad en los recuentos de colonias bacterianas de Mesofilos aeróbicos, y un 47 %(14) muestras reportaron altos recuentos de colonias formadoras de Mesofilos aeróbicos considerándose como muestras de leche de mala calidad.

Existe un mayor promedio para los hatos que no lavan pezones con

1730000 UFC/ml comparado con los 1270000 UFC/ml de las que lavan en cuanto al Recuento de Mesófilos. Esta práctica es efectiva para reducir los conteos y obtener leche de buena calidad, debido a la disminución en el crecimiento y el desarrollo microbiano previniendo la transmisión de microorganismos entre vacas y la disminución de la población microbiana sobre la piel del pezón, en la presente investigación se encontró un 77% de las muestras analizadas superaron el número permitido de 10^6 UFC/ ml en leche cruda. Muy similar al trabajo realizado por, en hatos que lavan y no lavan pezones.

En el trabajo de investigación "Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela, 2013, se evaluó la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada proveniente de diversas zonas del estado Carabobo, Venezuela. Siguiendo la metodología descrita por la APHA y COVENIN, fueron analizadas 100 muestras de leche pasteurizada y 40 de leche cruda. En cuanto a la leche cruda, 72,5% de las muestras presentaron recuentos de bacterias aerobias mesófilas por encima de los límites establecidos, porcentajes muy similares a la presente investigación en la ciudad de baños, contrario a los resultados del TRAM, según los cuales sólo 30% de las muestras incumplían la norma.

Del total (30) de muestras analizadas el 23% no van a superar los estándares de calidad, en el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus* sp. Considerándose muestras buenas de leche cruda. 17% (5) muestras superan los estándares de calidad considerándose muestras como regulares para unidades formadoras de colonias (UFC), de *Streptococcus* sp. Y se reporta 60%(18) muestras sobre los estándares, considerándose como de

mala calidad. Clasificándolo esta leche cruda como de muy alta carga bacteriológica. Cultivo en agar sangre: Se utiliza para detectar patógenos de mastitis. Tanto *Staphylococcus aureus* como *Streptococcus agalactiae* provienen de la glándula y no son resultado de contaminación externa. Otros patógenos, como los *Streptococcus* ambientales (considerados genéricamente como *Streptococcus* no *agalactiae*) pueden provenir tanto de la glándula mamaria como de contaminación externa según (10).es probable que la relación independiente entre la calidad higiénica (mesofilos aeróbicos), y el número de colonias de *Streptococcus* sp. En la presente investigación no sea el resultado de una contaminación externa sino por una mastitis subclínica por la presencia intra mamaria de este microorganismo independiente mente del número de UFC/ml de Mesofilos aeróbicos, como indicativo de calidad higiénica.

Del total de 30 muestras analizadas 67 %(20) no superan los estándares de calidad, en el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Staphylococcus aureus* considerándose muestras buenas de leche cruda. El 7%(2), superan los estándares de calidad considerándose muestras como regulares para unidades formadoras de colonias (UFC), de *Staphylococcus aureus* y se reporta 26 %(8) muestras sobre los valores o estándares, considerándose como de mala calidad. Según la legislación europea en cuanto a la calidad de la leche de vaca y sus condiciones mínimas para comercializar ,figura en el boletín de las comunidades europea del 1 de enero del 1993, señala que la leche debe tener menos de 100.000 gérmenes por ml a 30 C°,Tomando como referencia para nuestra investigación para el recuento de colonias bacterianas de *Staphylococcus aureus*.en la presente

investigación se encontró que el 33% de las muestras analizadas sobre pararon los estándares permitidos.

Análisis del Recuento de *Estaphylococcus* spp. El Recuento de *Estaphylococcus* presenta una relación significativa para el primer muestreo comparado con los resultados en el segundo ($p < 0,05$). Se encontraron altas variaciones que oscilan entre 0 a 350000 UFC/ml para el primer muestreo, hasta 0 a 66000 UFC/ml en el segundo muestreo, indicando una infección intra mamaria, en la presente investigación concuerda con el segundo muestreo realizado por, donde se encontró que el 20 % de las muestras no superan los niveles máximos permitidos según las normas considerándose como leches de buena calidad ,así mismo, el 33 % de las muestras están sobre el nivel permitido muy relacionado a lo encontrado por , en su primer muestreo indicando una infección mamaria.

Entre el recuento de Mesófilos aerobios y *Estaphylococcus* spp. Existe una relación directa significativa en el primer muestreo ($p < 0,05$), lo que indica que el origen puede estar asociado con ubres infectadas y no son el resultado de contaminación externa, y por ende la leche proveniente de cuartos infectados por mastitis que aportan millones de bacterias,

La carga microbiana inicial de la leche, está directamente relacionada a la limpieza de los utensilios utilizados, su almacenamiento y transporte. De esta forma, la higiene y sanitización deficiente de los ordeñadores, baldes, perolas y sistema de ordeño son mencionados como los principales factores responsables por el aumento de este parámetro. Un punto a resaltar, es que no existe relación estrecha entre la aparición de la mastitis (calidad sanitaria)- y el conteo total bacteriano en la leche, esto porque, el número de colonias x ml-1 de los microorganismos

responsables es muy bajo. Una excepción en esto, sería la mastitis causada por *Estreptococcus agalactiae*, ya que, en el caso de que no exista infección causada por este agente en las vacas lecheras, el origen de la alta contaminación microbiana de la leche pasa a ser prioritariamente de los utensilios y del sistema de ordeña mal higienizados y sanitizados. en la presente investigación se ajusta a lo señalado por, ya que la relación es directa de la carga bacteriana de *Estreptococcus* sp con el recuento de colonias bacterias de Mesofilos aeróbicos como indicadores de la calidad higiénica, encontrándose que un 77% de las muestras analizadas superaron el número permitido de los estándares para *estreptococos* sp.se encontró un 77% de las muestras analizadas superaron el número permitido de 10^6 UFC/ ml de Mesofilos aeróbicos en leche cruda.

De las 30 muestras de leche cruda recolectadas para el recuento de unidades formadoras de colonias bacterianas de *E. coli* (UFC), ninguna mostro crecimiento en el cultivo, que podría estar relacionado a factores externos. Justificándose tal vez por la ausencia de lluvias en la época de estiaje como se da en los meses de julio y agosto en la ciudad de Baños, época de muestreo de nuestra investigación, concordando según (11), señala la contaminación de corrales, salas de ordeño y contaminación del agua y de los animales con las excretas, es menor, considerando el reservorio de la bacteria *E. coli*, el entorno de la vaca, ya que épocas lluviosas se acentúa,

En las estaciones lluviosas cuando se exponen las vacas a la suciedad por estiércol, llegan sucias a las salas de ordeño. En donde la ubre húmeda contamina las pezoneras representando un riesgo para el establecimiento de estos microorganismos.

B. Análisis de la relación calidad higiénica (mesofilos aeróbicos y calidad sanitaria (células somáticas)).

En nuestra investigación Los niveles de células somáticas de las muestras de leche analizada 30%(9), se encontraron bajos del número recomendado, permitido, 63%(19) se encontraron con un número regular sobre los niveles permitidos, y 7%(2) de muestras analizadas se encontraron con niveles altos. Considerando los valores de referencia de Recuento de células somáticas (RCS) usado (National Mastitis Council, 1999), y la norma técnica peruana (NTP):202.173.1998. Para considerar la presencia del número de células somáticas en leche cruda entre 200.000 a 500.000 cel/mL. Respectivamente según **(12)**. En la presente investigación se encontró el 70 % de muestras analizadas con niveles sobre los permitidos por las normas técnicas peruanas, reportando leche de regular a mala calidad sanitaria. Como indicativo de la presencia de mastitis subclínica, podemos señalar que existe alta incidencia sin embargo al análisis estadístico ($0,05 < 0,638$), SPSS. Se valida la hipótesis nula, mostrando independencia en la relación.

Los resultados señalan que la leche registró promedios significativos en cuanto al Recuento de Células Somáticas (RCS) en el segundo muestreo en comparación con el primero ($p < 0,05$); esto señala que las células somáticas se ven aumentadas por varias causas entre ellas la mastitis, el inicio y final de la lactancia, el estrés de los animales, cambios en la higiene ambiental, funcionamiento del sistema de ordeño y cambios en el clima, concordando con la presente investigación ya que se muestrearon animales de segundo parto y en épocas de estiaje existiendo escasas de pasturas por la escasas de precipitación

fluvial conllevando a etapas de estrés en los animales.

CONCLUSIONES

La contaminación microbiológica de la leche que es usada principalmente para la elaboración de quesos tradicionales, en la que normalmente la leche no es pasteurizada, afecta finalmente al consumidor de productos lácteos de la región de Huánuco, no sólo con productos de menor calidad, si no también se corre el riesgo de la presencia de microorganismos patógenos en ellos.

La presencia de *Streptococcus* sp. como indicador de carga bacteriana en la leche cruda de vaca está relacionada directamente con la calidad higiénica (número de colonias bacterianas de Mesofilos aeróbicos (UFC/ml) de la leche cruda. Probablemente se deba que los niveles de colonias de *Streptococcus* sp tenga un origen externo, de contaminación del pezón, del ordeñador, utensilios de ordeño. Y el medio de cultivo me esté reportando alto recuento de *Streptococcus* no agalactea de origen ambiental o externo.

Ya que la relación es directa de la carga bacteriana de *Streptococcus* sp con el recuento de colonias bacterias de mesofilos aerobicos como indicadores de la calidad higiénica, encontrándose que un 77% de las muestras analizadas superaron el número permitido de los estándares para *Streptococcus* sp. se encontró un 77% de las muestras analizadas superaron el número permitido de 106 UFC/ ml de Mesofilos aeróbicos en leche cruda. Demostrando una relación directa ($0,05 > 0,008$), al análisis estadístico, SPSS.

El 33 % de las muestras están sobre el nivel permitido muy relacionado a lo

encontrado por , en su primer muestreo indicando una infección mamaria. La presencia de *Estaphilococcus aureus* como indicador de la carga bacteriana en la leche cruda de vacas es independiente de la calidad higiénica como indicador colonias bacterias de Mesofilos aeróbicos, de la leche cruda de vaca. Tal vez la presencia de *Estaphilococcus aureus* haya creado resistencia inmunológica por ser una bacteria más agresiva que el *Estreptococcus* sp. .así mismo se justifica la prevalencia alta 77%, sin embargo al análisis estadístico ($0,05 < 0,489$), SPSS, se valida y se acepta la hipótesis nula e independencia en la relación.

La presencia de células somáticas como indicador de la calidad sanitaria en la leche cruda de vacas también es independiente de la calidad higiénica como indicador colonias bacterias de Mesofilos aeróbicos, de la leche cruda de vaca. En la presente investigación se encontró el 70 % de muestras analizadas con niveles sobre los permitidos por las normas técnicas peruanas, reportando leche de regular a mala calidad sanitaria. Como indicativo de la presencia de mastitis subclínica. concordando con la presente investigación ya que se muestrearon animales de segundo parto y en épocas de estiaje existiendo escases de pasturas por la escases de precipitación fluvial conllevando a etapas de estrés en los animales, las defensas se ven disminuidas de los animales por factores externos, justificamos que existe prevalencia alta sin embargo al análisis estadístico ($0,05 < 0,638$), en SPSS, mostrando validación de la hipótesis nula, e independencia en la relación.

El desconocimiento de las buenas prácticas durante el proceso de ordeño es un factor desfavorable que permite el

desarrollo y aumento de la proliferación de bacterias patógenas. En la leche de vaca.

Los resultados demostraron que es necesario que las autoridades de salud de la región de Huánuco y del país implementen medidas más estrictas en el control sanitario de la leche, desde las fincas de ordeño hasta la industria láctea regional.

RECOMENDACIONES

Los propietarios mantengan saludables a las vacas lecheras; apliquen rutinas y programas de higienización y sanidad las instalaciones y los equipos destinados al ordeño y almacenamiento de la leche cruda.

Se aplique técnicas de ordeño correcto con la finalidad de controlar el ingreso de microorganismos causantes de mastitis.

Las personas consuman leche directamente o para la elaboración de sub productos lácteos o consumo directo previos procesos térmicos y de esterilización de la leche cruda. Supervisados por los órganos de gobierno e instituciones afines .DIRESA, DIGESA y las Municipalidades.

Las vacas deben de tener un programa de control sanitario periódicamente Realizado por las entidades correspondientes como **SENASA, MINAGRI.**

Recomendar a los propietarios que a la medida de sus posibilidades realicen la construcción de los techos, que deben ser altos y amplios para resguardar de la lluvia, tanto a los animales como las instalaciones, pero de tal manera que no

conviertas todo en instalaciones cerradas.

Se recomienda que los establos deben contar con una buena corriente de aire y sobre todo buena luminosidad de toda el área

La leche sin cocción y los productos lácteos crudos consiguen originar enfermedades transferidas por los alimentos. Teniendo en cuenta que estos productos no están pasteurizados ni tratados, es necesario realizar controles alternativos de seguridad para garantizar que no supongan riesgo alguno para la salud pública, por lo que se recomienda que su consumo deba ser preferentemente cocida.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **GARCÍA, S. R. 2003.** Células somáticas una advertencia sin darnos cuenta. Holstein de México. 34 (8): 27-28.
2. **BUXADE CARLOS C.1997.** Vacuno de leche: puntos clave. Ediciones Mundo. Madrid Barcelona España pag.471.
3. **FAO.** Guía simplificada para el entendimiento y uso de objetivos de inocuidad de los alimentos y objetivos de rendimiento.2006. Norma Técnica Peruana 202.087 para los diferentes microorganismos o grupos de microorganismos.
4. **AMIOT, JEAN,** Ciencia y Tecnología de la Leche. Principios y Aplicaciones. EDITORIAL ACRIBIA. Zaragoza, España. 1991.
5. **JAYARAO BM,** Donaldson SC, Straley BA, Sawant AA, Hegde NV, Brown JL. 2006. A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in Pennsylvania
6. **RUIZ, A.; PONCE, P.; GOMES, G.** et al. Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: Comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. Revista de Salud Animal, v.33. n.1, p.57-64, 2011.
7. **BOARD, R. G.** et al. Microbiología Moderna de los Alimentos. Editorial ACRIBIA, S. A. Zaragoza, España. 1989.
8. **PINZÓN FERNÁNDEZ.** "Recuento Microbiano de la Leche". Trabajo de Investigación Universidad Javeriana, España, 1995.
9. **BOARD, R. G.** Introducción a la Microbiología Moderna de los Alimentos. Editorial ACRIBIA, S. A. Zaragoza, España. 1988.
10. **CALVINHO L.2007.CONTROL DE MASTITIS CAUSADAS POR ESTREPTOCOCOS AMBIENTALES.** Jornada APROCAL – INTA Rafaela, julio 2007. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina.
11. **BUXADE CARLOS C.1997.** Vacuno de leche: puntos clave. Ediciones Mundo. Madrid Barcelona España pag.471
12. **PERÚ, INSTITUTO NACIONAL DE DEFENSA DE LA COMPETENCIA Y DE LA PROTECCIÓN DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL**

(INDECOPI). Norma Técnica Nacional
202.087. Lima: INDECOPI; 1982.

E-MAIL: **enicagope@hotmail.com**